

DIE AUSSCHIEDUNG VON PREGNANDIOL
BEI GESUNDEN SCHWANGEREN
NACH FORTLAUFENDER HOHER ALDOSTERONGABE

von

PETER SCHAUDER

Mann 1965



Aus der Universitätsfrauenklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor Professor Dr. K. Thomsen

Die Ausscheidung von Pregnanliol
bei gesunden Schwangeren
nach fortlaufender hoher Aldosterongabe.

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Peter Schauder
aus Breslau
Mainz 1965

Dekan: Prof. Dr. G.W. Korting

Referent: Prof. Dr. G. Stark

Korreferent: Prof. Dr. K. Thomsen

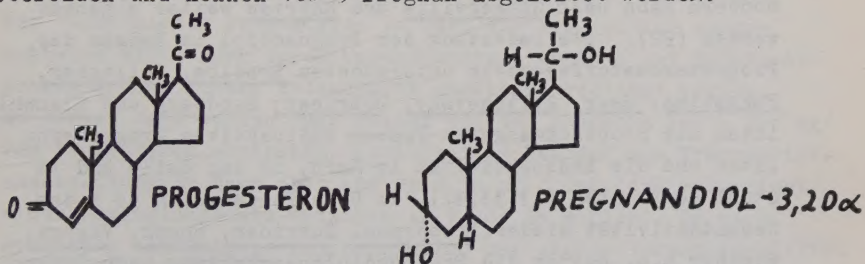
Tag der mündlichen
Prüfung:

26.11.1965

Die Rolle des Pregnandiols im Progesteronstoffwechsel

Pregnandiol wurde erstmals 1929 und 1930 von Butenandt und Marrian als physiologisch unwirksame Substanz aus Schwangerenharn isoliert und seine chemische Struktur 1931 von Butenandt aufgeklärt. Pregnandiol ist jedoch nicht spezifisch für den menschlichen Organismus. Marker, Fish, Dorfman und Young konnten auch im Harn einiger Tiere - Kühe, Bullen, Stuten, Schimpansen - Pregnandiol nachweisen (31,69).

Mehrere Arbeitskreise fanden 1934 gleichzeitig Progesteron im Gelbkörperextrakt. Beim Vergleich des chemischen Aufbaus dieser Verbindungen lag der Schluss nahe, dass es sich beim Pregnandiol um ein Stoffwechselprodukt des Progesteron handelte. Chemisch gehören diese beiden Verbindungen zu den Steroiden und können vom 5 Pregnan abgeleitet werden.



Der Stoffwechsel des Pregnandiols ist noch nicht völlig aufgeklärt. Neben dem Progesteron als sicher wichtigster Substanz kommen noch eine Reihe anderer Verbindungen als Muttersubstanzen des Pregnandiols in Betracht. Nach Bloch, Pearlman, Pincus, Hamblen, Kazmin, Browne und Cuyler kann neben dem Desoxycorticosteron, dem Cholesterin, dem 20α-Hydroxy Δ^4 -pregnen-3-on oder seinem 20 Epimer und dem Pregnenolonsulfat besonders Pregnenolon zum Pregnandiolgehalt im Organismus wesentlich beitragen (2,11, 30, 41, 44, 49, 78, 79, 90, 117). Pregnandiol ist andererseits nicht das einzige Stoffwechselprodukt des Progesteron (Forbes, Zander, v. Munstermann, Neher, Jayle, Crepay). Bekannt ist der Ab- oder Umbau des Progesteron

zu Cortisol, 17α - Hydroxyprogesteron, Corticosteron, Des-oxy corticosteron, 11β - Hydroxyprogesteron, Allopregnandiol, Allopregnanolon, Androstendion (Testosteron), Ketopregnenol, u.a. Solomon, Vande Wiele und Lieberman glauben mit anderen auf Grund ihrer Durchströmungsversuche, dass Progesteron im Ovar wahrscheinlich über 17α Hydroxyprogesteron zu Androstendion (Testosteron) umgebaut werden kann und über Testosteron unter Umständen weiter zu Östradiol (93). Daraus ist ersichtlich, wie mannigfaltig die Wege sind, über die Progesteron im intermediären Stoffwechsel ab- oder umgebaut werden kann. Ein gewisser Teil der Progesteronmetaboliten ist chemisch noch nicht identifiziert. Nach Jones, Berliner, Salhanick besteht die Möglichkeit, dass einigen von ihnen biologische Aktivität zukommt (46). Nach Heard, Bauld und Hoffman ist Pregnandiol jedoch mengenmässig wichtigster Metabolit des Progesteron (40). Ein Teil des im intermediären Stoffwechsel entstandenen Pregnandiol wird nicht als solches ausgeschieden, sondern kann nach Sommerville und Marrian weiter abgebaut werden (92). Die Bedeutung des Pregnandiol im Rahmen des Progesteronstoffwechsels untersuchten Bradlow, Gallagher, Fukushima, Beer, Kritshevsky, Dobriner, Sandberg und Slauwhite, indem sie nichtschwangeren Frauen radioaktives Progesteron gaben und die Radioaktivität im Harn, in der Galle und im Stuhl bestimmten (13,33,87). Im Urin fanden sich 50 % der Gesamtaktivität wieder. Lieberman, Dobriner, Ungar, Vignos, Stecher u.a. hatten die Pregnandiolausscheidung nach Gaben von nichtmarkierten Progesteron im Urin kontrolliert und nur 20 % der verabfolgten Progesteronmenge als Pregnandiol wiedergefunden (23,92,103). Aus diesen Versuchen ergibt sich, dass die Hälfte der Progesteronstoffwechselprodukte über die Niere ausgeschieden wird. Pregnandiol ist daran zu 40 % beteiligt. In der Galle wurden bis zu 40 % der Gesamtaktivität wiedergefunden, davon jedoch nur 15 % kurze Zeit später im Stuhl. Ein grosser Teil dieser Progesteronmetaboliten wird also eine gewisse Zeit über den entero-hepatischen Kreislauf im Organismus zurückgehalten. Bei dieser Fraktion spielt das Pregnandiol nur eine ganz untergeordnete Rolle (84). Nach Engel, Ferin, Merteus, Masson, Hoffman, Quilligan und Rothchild

ist die Leber wichtigstes Organ, in dem die Bildung des Pregnandiol aus Progesteron und damit die Inaktivierung erfolgt (27,29,71,81,102). Dort wird Pregnandiol auch durch Kopplung an Glucuronsäure oder Schwefelsäure harnfähig gemacht. Nach Bauld, Heard, Hoffman, Huebner, Overman und Link ist die Glucuronsäure am C₃ Atom in β Konfiguration gebunden (40, 43). Forbes u.a. (32) fanden eine Inaktivierung in der Niere, allerdings nicht zu Pregnandiol, und später zu erörternde Gesichtspunkte lassen an eine Inaktivierung zu Pregnandiol im Endometrium denken. Untersuchungen über den Glucuronid- und Sulfatanteil des Pregnandiol haben unterschiedliche Ergebnisse gebracht. O. Crepy et al. geben ein Verhältnis Pregnandiolglucuronid zu Pregnandiolsulfat wie 999 zu 1 an (20). N.H.C. Shen und Mitarbeiter fanden einen Sulfatanteil zwischen 6 und 65 % (87). Dazwischen liegen die Ergebnisse von Sandberg und Slaunwhite (89). Die Experimente mit markiertem Progesteron haben gezeigt, dass nur ein gewisser Prozentsatz des verabfolgten Progesteron im Harn als Pregnandiol ausgeschieden wird. Auch durch Untersuchungen am Ende der Schwangerschaft konnte dieser Prozentsatz annähernd bestimmt werden. Zu dieser Zeit werden nach Zander von der Placenta 190 - 280 mg/Tag Progesteron abgegeben. Gleichzeitig beträgt die Pregnandiolausscheidung im Harn aber nur 20 - 70 mg / Tag, das entspricht einer Umwandlungsrate zwischen 10,5 und 25 % (118). Da nach Bengtsson und Esarque wahrscheinlich das corpus luteum zusätzlich Progesteron weiterproduziert, liegt die Umwandlungsrate unter Umständen noch niedriger (8). Die Höhe der Umwandlungsrate ist allerdings sehr schwankend. Sie ist zunächst starken individuellen Schwankungen unterworfen. Zusätzlich fanden Kaufmann, Westphal und Zander einen Einfluss der Progesteronmenge auf die Umwandlungsrate. Bei Kastratinnen wurden von 50 mg Progesteron 0,9 % als Harnpregnandiol wiedergefunden, von 100 mg 1,6 %, von 200 mg 6,5 % (49). Sommerville u.a. fanden einen Einfluss des Endometrium auf die Umwandlungsrate (81,92). Nach Progesterongaben wurden in der Lutealphase des Zyklus rund 10 % als Harnpregnandiol wiedergefunden, in der Schwanger-

schaft 20 - 30 %, in der Menopause 5 %. H.A. Müller ^{*} konnte in der Menopause keinerlei Pregnandiolausscheidungen mehr feststellen (73). Es scheinen also einerseits hohe Progesteronspiegel im Organismus, andererseits ein gutfunktionierendes Endometrium eine hohe Umwandlungsrate zu Pregnandiol zu bedingen. Die Abhängigkeit funktionstüchtiges Endometrium = hohe Umwandlungsrate lassen an die Möglichkeit einer Mitbeteiligung des Endometrium bei der Progesteroninaktivierung zu Pregnandiol denken.

Normalwerte des Pregnandiol im Urin

Da Progesteron in der Placenta in der Nebennierenrinde und im corpus luteum gebildet wird, andererseits neben dem Progesteron eine Reihe anderer Pregnandiolmuttersubstanzen existieren, ist Pregnandiol nicht nur während der Schwangerschaft und bei Frauen mit Regelblutungen im Harn nachzuweisen, sondern auch bei Frauen in der Menopause und bei Männern (21, 26, 30,41). Bei der Beurteilung der Normalwerte ist immer die Methode zu berücksichtigen, mit der Pregnandiol bestimmt wurde, weil die gemessenen Werte in Abhängigkeit von der angewandten Methode stark schwanken. Männer und Frauen in der Menopause haben Pregnandiolwerte bis zu 2 mg / Tag (26,50). Während der Gelbkörperphase des Zyklus liegen die Werte zwischen 2-13 mg / Tag und fallen dann wieder auf unter 1 mg / Tag ab (49,50,76). Im Verlauf der Schwangerschaft ist ein starker Anstieg der Pregnandiolausscheidung festzustellen. Im ersten Trimester liegen die Werte häufig noch nicht über den Werten der Gelbkörperphase (49,76). Erst in der Schwangerschaftsmittle wird die Ausscheidung höher und steigt bis zum Schwangerschaftsende an (30,38,47,49). Der Anstieg erfolgt meist zwischen dem 80. - 120. Schwangerschaftstag, das entspricht dem Zeitpunkt, an dem nach allgemeiner Auffassung die Placenta für die Progesteronproduktion die Hauptrolle zu spielen beginnt (21,42,49)

* mit der Methode nach Venning und Browne

Untersucher, die mit der Methode nach Venning & Browne (107) gearbeitet haben, fanden Werte zwischen 25 - 150 mg / Tag (42,44,73,80,82). Bei der Westphalschen Methode liegen die Werte um $\frac{2}{3}$ niedriger (49). Ein grosses Interesse hatte vorübergehend der Zeitpunkt gefunden, an dem die hohen Progesteronwerte im Blut und damit die Harnpregnandiolwerte zur Norm zurückkehrten. Es wurde von einigen Autoren die Vermutung geäussert, der Abfall des Progesteron sei gleichsam das Signal, der physiologische Reiz, zur Einleitung der Geburt. Einen Abfall der Pregnandiolwerte kurz vor der Geburt haben von Lam, Hoffmann und Rak festgestellt (42,82). Überwiegend wurde dieser Abfall jedoch erst nach der Geburt festgestellt (47,49). Die Einleitung der Geburt ist somit wohl nicht durch einen Abfall des Blutprogesteronspiegels zu erklären. Insgesamt ist die Pregnandiolausscheidung während der Schwangerschaft starken inter- und intraindividuellen Schwankungen unterworfen. Diese Schwankungen liegen mehr in der ersten Schwangerschaftshälfte wie Kaufmann, Westphal und Zander anhand eines grossen Untersuchungsgutes zeigen konnten (49). Später verläuft die Ausscheidung etwas kontinuierlicher. Aber auch bei völlig normalem Schwangerschaftsverlauf können immer Remissionen auftreten, d.h. die Pregnandiolwerte können vorübergehend stark absinken. Beispielsweise fanden Kaufmann und Mitarbeiter bei 4 normalen Schwangerschaften folgende Werte:

Fall I	132. Tag	18 mg / Tag	
	136. "	1,5 "	"
Fall II	122. "	4 "	"
	128. "	40 "	"
Fall III	74. "	0,5 "	"
	80. "	9 "	"
Fall IV	100. "	1 "	"
	105. "	7 "	"

Die Pregnandiolausscheidung bei Gestose und die Beziehungen zwischen Aldosteron und Progesteron.

Die diagnostische Verwertbarkeit der Pregnandiolausscheidung ist wegen der starken inter- und intraindividuellen Schwankungen beschränkt. Ein weiterer Unsicherheitsfaktor ist, dass bei praktisch allen Standardmethoden mit dem eigentlichen Pregnandiol eine Reihe weiterer Pregnanverbindungen miterfasst werden. Als Metaboliten des Progesteron werden Pregnandiol, Pregnandion, Pregnanolon miterfasst, von seiten der Corticoide Pregnantriol, Pregnantriclone, Pregnantetrol (30,50). Die Beurteilung möglicherweise pathologischer Werte ist deswegen schwierig. Eine Einzelbestimmung ist in praktisch jedem Fall ungenügend und nur längere Verlaufskontrollen der Pregnandiolwerte haben eine gewisse Aussagekraft. Eine breite Bearbeitung hat die Pregnandiolausscheidung im Rahmen der Gestose gefunden. Schon 1938 wurden mit der Methode von Venning und Browne erniedrigte Pregnandiolwerte bei Spätgestose gefunden (14,111). Mit anderen Methoden wurde das vielfach bestätigt (28, 66, 68, 72, 77, 113). Einige Autoren fanden unveränderte oder erhöhte Werte (16, 19, 37). Wie die Pregnandiolwerte in der normalen Schwangerschaft und der Gestose verhalten sich auch die Aldosteronwerte. Nach Stark, Martin, Mills, Gornall, Koczorek, Gross u.a. steigt die Aldosteronausscheidung im Verlauf der Schwangerschaft (24, 35, 45, 52, 53, 83, 97, 108). Stark hat bei Schwangeren im 10. Monat Werte von 20 - 180 γ / Tag gemessen. Gornall fand im letzten Schwangerschaftsmonat Werte bis 125 γ / Tag, Koczorek und Mitarbeiter Werte zwischen 16 und 100 γ / Tag. Als Ort dieser vermehrten Aldosteronsekretion geben manche Autoren die kindliche Nebennierenrinde bzw. die Placenta an (10, 7, 56, 106).

Neher und Stark konnten jedoch bei der Aufarbeitung von 30 kg Placentagewebe kein Aldosteron nachweisen (75). Ebenso zweifelhaft ist es nach Muller et al. die kindliche Nebennierenrinde für die hohen Aldosteronwerte der Schwangerschaft verantwortlich zu machen, denn im 48-Stundenharn von Neugeborenen konnten nur geringe Mengen von Aldosteron gefunden werden (74). Die vermehrte Aldosteronsekretion kommt nach Stark, Jones, Gornall hauptsächlich durch eine erhöhte Bildungsrate in der mütterlichen Nebenniere zustande (35, 36, 45, 97). Ayres et al. diskutieren eine Umwandlung von Progesteron zu Aldosteron in der Nebennierenrinde (5). Bei Gestosen wird nach Stark, Jones, Tait, Greenwood, Lieberman, Lloyd u.a. Aldosteron im Vergleich zur normalen Schwangerschaft vermindert ausgeschieden (15, 35, 39, 52, 53, 57, 61, 70, 72, 99, 105). Stark fand bei Gestosen Durchschnittswerte von 25 μ g / Tag. Bei Eklampsien können nach Stark die Aldosteronausscheidungswerte denen von Nichtschwangeren gleichen (99). Die Ursache für die niedrige Aldosteronausscheidung bei Gestosen ist bislang unbekannt. Es wird eine Hypofunktion der Nebennierenrinde diskutiert, da Bartholomei und Onnis bei an Eklampsien verstorbenen Patientinnen eine verminderte histochemische Aktivität in der Nebennierenrinde gefunden haben (6). Koczorek, Louros u.a. glauben jedoch eine Erklärung zu haben, auf die später eingegangen wird. Die Tatsache, dass die hohe Aldosteronausscheidung im Harn nach der Geburt zur Norm zurückkehrt, und zwar sowohl bei der normalen als auch bei der pathologischen Schwangerschaft, legt nach Martin, Mills, Koczorek, Louros, Miras, Frangiadakis den Gedanken nahe, die Ursache der vermehrten Aldosteronausscheidung in den Bedingungen der Schwangerschaft selbst zu sehen (52, 68, 70). Für diese These sehen sie auch in den Arbeiten von Landau und Mitarbeitern eine Bestätigung. 1955 fanden Landau et al. Wechselbeziehungen zwischen Progesteron und dem Elektrolythaushalt. Nach Progesterongaben von 50 - 100 mg / Tag beobachteten sie bei einigen ihrer Fälle eine deutlich vermehrte Natriumausscheidung.

Dieser Effekt war nur bei Anwesenheit von Nebennierenrindenhormonen zu erzielen und hielt nur wenige Tage an (60). Bei weiteren Untersuchungen fanden Landau et al., dass 150 mg Progesteron die Wirkung von 20 γ -d-Aldosteron aufheben (59). 1962 fanden Landau und Ehrlich, dass bei 3 Schwangeren nach hoher Kochsalzzufuhr sowohl die Aldosteron- als auch die Pregnandiolausscheidung im Harn absank (25). Progesteron soll natriuretisch wirken durch kompetitive Hemmung am distalen Nierentubulus und damit den gleichen Wirkungsmechanismus haben wie die progesteron-ähnlichen Spironolactone (54, 64, 101). Die als Mass für die Progesteronsekretion dienende Pregnandiolausscheidung nimmt von Beginn bis gegen Ende der Schwangerschaft ebenso wie Aldosteron zu. Nach Koczorek et al. liegt es nahe, die vermehrte Aldosteronsekretion als einen natriumbewahrenden Ausgleichsvorgang gegen die hohen Progesteronwerte anzusehen, die eine Natriurese machen würden. Die Vermutung über den Antagonismus zwischen Aldosteron und Progesteron im Rahmen der Schwangerschaft sehen Koczorek et al. durch das Verhalten von Aldosteron- und Pregnandiolausscheidung bei Gestose bestärkt (52, 53, 54). Es soll bei der Gestose auf Grund der Verminderung des natriuretisch wirksamen Progesteron (erniedrigte Pregnandiolausscheidung im Harn) der Zwang zu einer überschüssenden Aldosteronbildung entfallen. Daher lägen neben niedrigen Pregnandiolwerten auch niedrige Aldosteronwerte vor. Das Gleichgewicht zwischen beiden sei aber zu Gunsten des Aldosteron gestört. So könne die natriuretische Wirkung des Progesteron nicht mehr die Aldosteronwirkung ausgleichen; infolgedessen komme es zu einer Natriumretention verbunden mit Wasserretention und das sei ein Grund für die Ödeme bei Gestose (54, 68). Eine wichtige Ursache für das Überwiegen von Aldosteron sei dessen verminderter Abbau durch die im Verlauf der Gestose geschädigte Leber (115). Venning und Dyrenfurth fanden, dass bei Gestose grössere Mengen von nichtkonjugiertem Aldosteron ausgeschieden

werden als bei der normalen Schwangerschaft (108). Assali, Dill, de Alvarez, Kenny und Mitarbeiter stellen die Verminderung der Nierendurchblutung als wichtige Mitursache der Ödementstehung heraus, denn durch ein vermindertes Glomerulumfiltrat allein kommt es schon zu einer Natriumretention (1,3,17,22,48,51). Röttger, Heckenbach, Wilbrand und Humke weisen auf eine wasser- und salzretinierende Wirkung der Östrogene hin, und zwar sowohl im Zyklus als auch in der normalen und in der pathologischen Schwangerschaft (85,114). Nach Friedberg ist ein hormoneller Einfluss auf die Ödementstehung allerdings sehr unwahrscheinlich. Um die postulierten Beziehungen zwischen Aldosteron und Progesteron während der normalen Schwangerschaft zu klären, haben wir den Einfluss fortlaufender hoher Aldosterongaben auf die Pregnanidiolausscheidung bei gesunden Schwangeren untersucht.

Material

Zur Untersuchung kam der 24-Stundenurin von 10 schwangeren freiwilligen Versuchspersonen. Um eine exakte Kontrolle der Harnausscheidung zu ermöglichen, wurden die Versuchspersonen stationär aufgenommen. Während der Versuchszeit erhielten sie eine Standarddiät* und ihr Gesundheitszustand wurde laufend überprüft. Alle 10 Versuchspersonen waren gesund, insbesondere zeigten sich keine pathologische Eiweissausscheidung im Harn, kein erhöhter Blutdruck und keine Ödeme. Das Alter der Schwangeren schwankte zwischen 17 und 41 Jahren. Es handelte sich teils um Erst-, teils um Mehrgebärende. Eine der Versuchspersonen war im 10. Monat, 5 im 9., 3 im 7. und 1 im 5. Monat. Der Versuch bestand aus einer fünftägigen Vor-, einer zehntägigen Haupt- und einer zweitägigen Nachperiode. Während der zehntägigen Hauptperiode

* Na: 150 mval
K : 50 mval

wurde täglich 1 mg Aldosteron^{*} i.m. injiziert. Während des Versuches wurde die Pregnanoliolausscheidung im Harn nach der Methode von Stahl und Waldi bestimmt.

Methode

Pregnanliol wurde dünnschichtchromatographisch nach Stahl (94,95,96) mit Hydrolyse und Extraktionsbedingungen nach Waldi (110) bestimmt.

I. Extraktgewinnung:

a) Sammeln und Konservieren

es wurde der 24-Stundenurin gesammelt, weil die Ausscheidung der Harnhormone im Verlauf von 24 Stunden konstanter und charakteristischer ist, als die von der Diurese abhängige Literkonzentration. Um Fehler beim Sammeln zu vermeiden, wurden die Patientinnen während der siebzehntägigen Sammelperiode stationär aufgenommen, sodass sie unter ständiger Kontrolle standen. Während der Sammelperiode wurde der Urin in einer Tiefkühltruhe gelagert, um eine bakterielle Zersetzung zu vermeiden, durch die auch Steroide zum Teil ab- oder umgebaut werden können (120).

b) Hydrolyse

Die gesättigten neutralen Steroide sind recht stabil und können durch Kochen mit starken Säuren in Freiheit gesetzt werden. Salzsäure hat sich zur Hydrolyse der neutralen, alkoholischen Steroide besser bewährt als Schwefelsäure (120). In ein 50 ml Rundkölbchen werden 10 ml vom 24-Stundenurin filtriert und zusammen mit 10 ml aqua dest. und 2 ml HCl im Wasserbad auf 90° erhitzt. Diese Temperatur wird genau 10 Minuten lang konstant gehalten.

* der Firma Ciba, die uns freundlicherweise Aldocorten (Aldosteron) zur Verfügung stellte. sind wir zu grossem Dank verpflichtet.

c) Extraktion

Der hydrolysierte Urin wird abgekühlt und dreimal mit je 25 ml Cyclohexan in einem 100 ml Scheidetrichter ausgeschüttelt. Dabei ist auf eine exakte Phasentrennung zu achten.

II. Fraktionierung:

Die vereinigten Cyclohexanextrakte werden zweimal mit je 20 ml n/ NaOH ausgewaschen. Dadurch gehen u.a. die phenolischen Steriode (Östrogene) in die natronalkalische Phase über. Nachwaschen mit zweimal 30 ml aqua dest. Um das Wasser vollständig zu entziehen, werden 5 - 7 g Natriumsulfat siccum zugesetzt. Dann schütteln, bis der Extrakt klar ist. Danach wird der Extrakt in einen Rundkolben filtriert und am Vacuum bei 50° eingedampft. Der Rückstand wird in Chloroform gelöst, in ein Spitzglas filtriert und wieder eingedampft. Den Rückstand nochmals in 0,5 ml Chloroform lösen und dünnschichtchromatographisch weiterfraktionieren. Die zur Dünnschichtchromatographie benötigten Platten werden mit einem Dünnschichtstreichgerät nach Stahl (94) hergestellt. Dabei werden Glasplatten (20 x 20 cm) mit einer 250 µ dicken Schicht aus Kieselgel-G (Merck, nach Stahl) als Sorptionsmittel bestrichen. Für jeweils 5 Platten wird eine Aufschlemmung von 20 g Kieselgel-G in 40 ml aqua dest. hergestellt. Die Platten müssen einige Minuten vortrocknen, bis die glänzende Oberfläche matt wird. Dann schliesst sich die Trocknung bei 110 ° C während 30 Minuten im Trockenschrank an. Wird länger erhitzt, verliert die Kieselgel-G-Schicht von ihrer Haftfestigkeit. Die Platten werden mit Hilfe einer Schablone liniert. Entsprechend der Zahl der so entstandenen Felder werden in einem Abstand von 15 mm von der unteren Kante Startpunkte markiert. Der vorbereitete Extrakt und eine 0,25-prozentige Vergleichslösung von Pregnandiol in absolutem Alkohol

werden mit einer Agla-Mikrometerspritze aufgetragen. Von der Vergleichslösung werden 2 - 8 Striche (2 - 8 x 0,0002 ml) aufgetragen, von der Extraktmenge 20 - 50 Striche (20 - 50 x 0,0002 ml). Die Genauigkeit der Spritze für Volumina von 0,01 ml beträgt $\pm 0,00005$ ml. Die weitere Fraktionierung erfolgt durch Dünnschichtchromatographie. Bei allen chromatographischen Trennverfahren ist das Grundprinzip gleich. Eine mobile Phase wandert über eine stationäre Phase und transportiert dabei mehrere Substanzen mit verschiedener Geschwindigkeit in der Fließmittelrichtung. Die Dünnschichtchromatographie in ihrer üblichen Ausführung ist eine Elutionschromatographie. Im Idealfall wird durch die mobile Phase eine während der Trennung unveränderliche Menge einer gegebenen Substanz unabhängig von Begleitstoffen längs der stationären Phase bewegt. Während des Transports pendeln die Substanzteilchen unaufhörlich zwischen beiden Phasen. Die Fortbewegung eines Teilchens erfolgt nur während der Aufenthalte im Fließmittel, d.h. sprungweise. Die Aufenthaltsdauer eines Teilchens in der mobilen Phase (die Verweilzeit) ist abhängig von dessen physikalischen Eigenschaften und von den Versuchsbedingungen (Lösungsmittel). Bei verschiedenen Substanzen ergeben sich unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten. Dadurch wird ihre dünn-schichtchromatographische Auftrennung möglich. In einer Trennkammer aus Glas (21 x 21 x 9 cm) werden 100 ml Fließmittel (Chloroform : Aceton wie 80 : 20) eingefüllt. Zur Kammer-sättigung wird die Trogkammer mit Filterpapier ausgekleidet, das mit Fließmittel befeuchtet ist. Dadurch werden das Randphänomen (schnelleres Wandern des Extrakts an den Plattenrändern) und eine ungenügende Trennung der Steroide vermieden. Ausserdem wird die Laufzeit wesentlich verkürzt. Die Platte wird schräg eingestellt und die Kammer luftdicht verschlossen. Nach ca. 45 Minuten ist eine gute Fraktionierung erfolgt.

III. Nachweis der getrennten Steroide (Pregnandiol) mit Sprühreagentien.

40-%ige Phosphorsäure wird mit einem Druckluftsprüher mit feiner Düse auf die Platte versprüht, bis die Kieselgel-G-Schicht gleichmässig durchfeuchtet ist. Lipidzonen sind bereits vor der eigentlichen Farbreaktion als weisliche "Fettflecken" zu erkennen. Nach 30 Minuten Erhitzen der Platte bei 110 °C entwickeln sich scharf abgegrenzte hellgraue Farbflecken. Auf die noch heissen Platten wird dann Phosphormolybdänreagens aufgesprüht. Dadurch schlägt die Farbe in tiefblau-schwarz um und der Kontrast zur Umgebung wird noch schärfer.

IV. Quantitative Auswertung des Dünnschichtchromatogramms.

Voraussetzung für eine quantitative Auswertung sind die von der Papierchromatographie her bekannten Vorbedingungen. Zusätzlich ist die Standardisierung der Dünnschichtchromatographie durch ein definiertes Teilchengrössenspektrum, die chemische Reinheit des Sorptionsmaterials sowie eine reproduzierbare Schichtdicke der Trennungsschicht erforderlich. Zum Auftragen der Startflecken sind Glaskapillaren und Glaskolbenspritzen mit Schraubenmikrometervorschub zu verwenden. Wird der Glaskolben um eine Skaleneinheit (1 Strich) weiterbewegt, entspricht das einer Flüssigkeitsgabe von 0,0002 ml. Die Auswertung erfolgt durch visuellen Vergleich der angefärbten Flecken mit denen der Testsubstanz.

Beispiel:

Die Pregnandiolvergleichslösung ist 0,25%ig. 1' (Strich) der Vergleichslösung entspricht einer Flüssigkeitsmenge von 0,0002 ml und damit einem Pregnandiolgehalt von 0,5 µg. Die Extraktmenge beträgt immer 0,5 ml., das sind 2500' (Strich). Es entspreche der Extraktfleck 20' dem Vergleichslösungsfleck 6'. Das bedeutet, in beiden Flecken sind je 3 µg Pregnandiol enthalten. Damit ergibt sich für den Pregnandiolgehalt des Gesamtextrakts (0,5 ml = 2500') folgende Beziehung:

$$\frac{20}{3} = \frac{2500}{x} \quad x = \frac{2500 \times 3}{20} = 375$$

In 10 ml Urin sind also 375 μ g Pregnandiol enthalten. Folglich enthält 1 Ltr. Urin 37,5 mg. Bei bekanntem 24-Stundenurin lässt sich die Pregnandiolausscheidung pro Tag errechnen. Der 24-Stundenurin betrage 800 ml. Dann ergibt sich für die Pregnandiolausscheidung::

$$\frac{1}{37,5} \text{ mg} = \frac{0,8}{x} \quad x = \frac{37,5 \times 0,8}{1} = 30 \text{ mg Pregnandiol pro Tag.}$$

V. Spezifität und Fehlerbreite der Methode

Zur Identifizierung des Pregnandiols im Extraktflecken wurden die RF-Werte (relate to front = Weg Startpunkt - Fleckenmittelpunkt : Weg Startpunkt - Fließmittelfront) in verschiedenen Fließmitteln herangezogen und der Ausfall von Farbreaktionen bei Tageslicht und bei UV-Licht durchgetestet. RF-Werte von Pregnandiol (94, 110).

In Chloroform	= 0,05
In Chloroform - Äthylacetat (80 + 20)	= 0,12
In Chloroform - Aceton (90 + 10)	= 0,24
In Chloroform - Aceton (80 + 20)	= 0,34
In Cyclohexan - Chloroform - Eisessig (70+20+10)	= 0,35
In Methylenchlorid - Aceton (80 + 20)	= 0,61
In Chloroform - Eisessig (90 + 10)	= 0,65
In Methylenchlorid - Eisessig (90 + 10)	= 0,75

Farbnachweis:	bei Tageslicht	bei UV-Licht (Fluoreszenz)
Phosphorsäure	schwach hellgrau	fahlgraugrün
Essigsäure-H ₂ SO ₄	hellbraungrau	leuchtend gelbgrün
Antimonchlorid	hellgrau	fahlgelbgrün
Vanillin-H ₂ SO ₄	purpur	- - - - -

Herstellung der Reagentien siehe Stahl (94).

Die Fehlerbreite der Methode beträgt bei niedrigen Pregnandiolwerten (Zyklus) $\pm 20\%$ *, bei hohen Pregnandiolwerten (Gravidität) $\pm 15\%$. N.H.C. Shen et al. haben die Dünnschichtchromatographie mit der papierchromatographischen Methode nach Bongiovanni, Clayton verglichen und fanden keine signifikanten Unterschiede (88).

* Tabelle S. 15

Pregnandiolbestimmungen
zur Kontrolle der Fehlerbreite der Methode
(je 10 Parallelbestimmungen vom gleichen Urin)

-.-.-

Nr.	mg/Tag <u>nicht</u> gravid	Abweichung vom Mittelwert	mg/Tag gravid	Abweichung vom Mittelwert
1	1,1	- 0,1	8,1	- 0,9
2	1,2	+ 0	7,7	- 1,3
3	1,1	- 0,1	10,6	+ 1,6
4	1,0	- 0,2	10,2	+ 1,2
5	1,3	+ 0,1	8,1	- 0,9
6	1,3	+ 0,1	9,6	+ 0,6
7	1,0	- 0,2	8,1	+ 0,9
8	1,5	+ 0,3	9,5	+ 0,5
9	1,3	+ 0,1	8,1	- 0,9
10	1,3	+ 0,1	9,5	+ 0,5
$\overline{x}$	1,2		9,0	

VII. Wiederauffindungsrate für freies Pregnandiol

Zunächst wurde in einem Leerversuch nach der beschriebenen Methode der Pregnandiolgehalt in 10 ml Schwangerenurin bestimmt. Bei der Auswertung entsprachen 60 ' (Strich) des Extraktes 4 - 4 ' (Strich) der Vergleichslösung. Damit ergibt sich zur Berechnung des Pregnandiolgehalts folgende Beziehung

$$\frac{60'}{225} = \frac{2500'}{x} \quad x = \frac{2500 \cdot 225}{60} = 94 \gamma$$

Vom gleichen Urin wurden zur Bestimmung der Wiederauffindungsrate 3 weitere Proben zu je 10 ml untersucht, nachdem jeder Probe 0,5 ml einer 0,25 %igen Pregnandiol-Lösung, also je 1250 γ freies Pregnandiol zugesetzt worden waren. In allen 3 Auswertungen entsprachen 10 ' (Strich) des Extraktes 3 ' (Strich) der Vergleichslösung. Damit ergibt sich zur Berechnung des Pregnandiolgehalts folgende Beziehung:

$$\frac{10'}{15} = \frac{2500'}{x} \quad x = \frac{2500 \cdot 1,5}{10} = 375 \gamma$$

Von diesen 375 γ stammen aber nur 281 γ vom zugesetzten Pregnandiol, da im Leerversuch der Pregnandioleigengehalt des Urins mit 94 γ / 10 ml bestimmt worden war. Die Wiederauffindungsrate für "freies" Pregnandiol beträgt also 281 γ von 1250 γ , das sind 22 %.

Statistische Methodik

Für die einzelnen Versuchstage wurde statistisch errechnet

Durchschnittswert: $\bar{x}$

Standardabweichung des Mittelwertes: $\sigma_{\bar{x}}$

Folgende Formeln liegen der Berechnung zugrunde

Durchschnittswert der Einzelwerte:

n = Zahl der Fälle pro Tag

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Varianz der Einzelwerte:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

Standardabweichung der Einzelwerte:

$$s = \sqrt{s^2}$$

Standardabweichung des Mittelwertes:

$$\sigma_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Zur Prüfung, ob zwischen den einzelnen Untersuchungsperioden und der Vorperiode wesentliche, d.h. über den Zufall hinausgehende Unterschiede vorhanden waren, wurden aus den verschiedenen Tageseinzelwerten der zu vergleichenden Zeitabschnitte Durchschnittswerte für jeden Fall errechnet. Diese Durchschnittswerte stellen die eigentlichen Vergleichswerte dar. Sie wurden mit dem t-Test für verbundene Stichproben untersucht. Dabei kamen folgende Formeln zu Anwendung:

Durchschnittswerte der Differenzen (d_i)
zwischen den Vergleichswerten:

n = Zahl der Differenzen zwischen
den Vergleichswerten

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{n}$$

Varianz: $s_d^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2}{n-1} = \frac{\sum_{i=1}^n d_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n d_i)^2}{n}}{n-1}$

Standardabweichung:

$$s_d = \sqrt{s_d^2}$$

Standardabweichung des Mittelwertes:

$$\sigma_d = \frac{s_d}{\sqrt{n}}$$

$$t = \frac{\bar{d}}{\sigma_d} \cdot \frac{\text{Freiheitsgrad}}{n-1}$$

Wir betrachten ein Ergebnis als signifikant, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit höchstens 5 % beträgt.

$P \leq 0,05 = 5 \%$.

P wird abgelesen aus Geigytabellen in Abhängigkeit von Freiheitsgraden (34).

Ergebnisse

Die Pregnanidiolausscheidung der 10 mit Aldosteron behandelten gesunden Schwangeren zeigt grosse inter- und intraindividuelle Schwankungen. Das Ausmass dieser Schwankungen entspricht den in der Literatur angegebenen Werten (49, 50, 90). In diesem Sinne ist auch die Pregnanidiolausscheidung der 3 Schwangeren zu bewerten, die kein Aldosteron erhielten.

Wie Tabelle Nr. IV zeigt, trat unter dem Einfluss von 1 mg Aldosteron pro Tag beim Vergleich zwischen der fünftägigen Leerperiode (Vorperiode) (I) mit den 3 gebildeten Gruppen der Hauptperiode (II, III, IV) und der Nachperiode (V), bei den 10 gesunden Schwangeren kein signifikanter Unterschied der Pregnanidiolausscheidung auf.

Diskussion

Es kam uns bei der Fragestellung unserer Arbeit nicht so sehr auf die Absolutwerte der Pregnanidiolausscheidung im Harn an, sondern uns interessierte mehr die prinzipielle Verlaufskurve der Pregnanidiolausscheidung nach hohen Aldosterongaben. Für diese Fragestellung spielt es keine grosse Rolle, mit welcher der zahlreichen gängigen Methoden Pregnanidiol im Harn bestimmt wird. Ob man z.B. mit der Methode nach Venning - Browne findet, dass die bei dieser Methode üblichen sehr hohen Pregnanidiolwerte nach Aldosteron unbeeinflusst bleiben, oder ob man das gleiche mit der Methode von Westphal feststellt, bei der die Pregnanidiolwerte erheblich niedriger liegen, ist unwesentlich. Wir haben uns für die elegante und schnelle Dünnschichtchromatographie nach Stahl und Waldi entschieden, weil diese Methode für Routineuntersuchungen in der Klinik besonders geeignet ist. Unsere Arbeit bestätigt nicht die Anschauung, dass der Grund für die hohen Aldosteronwerte im Rahmen der Schwangerschaft in den hohen Progesteronwerten zu suchen ist, bzw. dass sich die Aldosteronproduktion in der normalen Gravidität und bei Gestosen der Vermehrung oder Verminderung der Progesteronwerte

anpasse. Die Vermutung, dass die Aldosteronausscheidung in der Schwangerschaft von der jeweiligen Höhe der Progesteronbildung abhängt, stützt sich besonders auf die Untersuchungen von Landau und Mitarbeitern (59,60). Diese Untersucher haben die natriuretische Wirkung von Progesteron bei 9 Frauen ausserhalb der Schwangerschaft festgestellt. Die Ergebnisse dieser Versuche dürfen jedoch nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse in der Schwangerschaft übertragen werden. Röttger, Heckenbach, Wilbrand und Humke konnten keinen Einfluss des Progesteron auf den Wasser- und Elektrolytstoffwechsel feststellen (85,114). Als besonders beweisend für die Anschauung eines Progesteron- Aldosteronantagonismus wurde das gleichlaufende Verhalten von Pregnandiolausscheidung und Aldosteronausscheidung bei Gestosen bewertet. Übereinstimmend werden von Stark, Jones, Lloyd-Jones, Kumar, Lieberman u.a. für Gestose erniedrigte Aldosteronwerte angegeben (15,35,39,52,53,57,61,70,72,99,105). Die Ergebnisse über das Verhalten der Pregnandiolwerte bei Gestose sind nicht so einheitlich. Zwar gibt die überwiegende Mehrzahl der Untersucher erniedrigte Pregnandiolwerte an (14,28,66, 68,72,77,111,113) , Cope, Hain, Coyle, Greig und Walker fanden jedoch eine unveränderte bzw. erhöhte Pregnandiolausscheidung bei Gestose (16,19,37). Alle diese Befunde sind jedoch nach den Arbeiten von Bradbury, Kent und Würterle unter einem neuen Blickwinkel zu betrachten. Bradbury und Kent fanden, dass man freies Pregnandiol umso weniger nachweisen kann, je mehr Eiweiss man einem zu untersuchenden Harn zusetzt (12). Sie arbeiteten dabei mit der Methode nach Astwood und Jones (4). Ihre Ergebnisse konnten von Würterle bestätigt werden (116). Auf die Gestose übertragen bedeutet das, dass die gemessenen Pregnandiolwerte nicht der tatsächlichen Ausscheidung entsprechen, sondern dass sie zu niedrig liegen. Damit ist das konkordante Verhalten zwischen Aldosteron und Progesteron sehr in Zweifel gestellt. Diese Zweifel werden durch Arbeiten von Simmer, Simmer, Eton, Short noch bestärkt, die gezeigt haben, dass bei Gestose im Venenblut Progesteron nicht ver-

mindert, sondern eher erhöht vorliegt (28,90). Stark (98) fand nach einzelnen Progesterongaben von 200 - 400 mg bei 10 Schwangeren keinen Einfluss auf die Aldosteronausscheidung. Von 10 untersuchten Nichtschwangeren zeigten 6 keine Veränderung der Aldosteronausscheidung. Kossmann hat nach fortlaufenden hohen Progesterongaben bei Nichtschwangeren die Aldosteronausscheidung gemessen und fand keine Veränderungen (55). Arbeiten von Gornall (35) Laidlaw (58) und Layne (62) bestätigen das im wesentlichen. Auch unsere Ergebnisse sprechen gegen die Anschauung, im Verlauf der Schwangerschaft seien die hohen Aldosteronwerte durch hohe Progesteronwerte bedingt. Denn obwohl während einer langen Zeit sehr hohe Dosen Aldosteron gegeben wurden, blieb bei den 10 untersuchten Schwangeren jeder Einfluss auf die Pregnanidiolausscheidung aus. Die Frage nach der Ursache für die hohe Aldosteronsekretion im Verlauf der Schwangerschaft und für die im Vergleich zur normalen Schwangerschaft erniedrigte Aldosteronsekretion im Rahmen der Gestose muss also weiterhin offen bleiben und es bedarf zu ihrer Klärung weiterer Untersuchungen. Im komplexen geschehen der schwangerschaftsbedingten Stoffwechselveränderungen ist die Erhöhung der Aldosteronsekretion nur ein Teilvorgang. Für diesen Teilvorgang ist wahrscheinlich nicht nur ein einziger Faktor verantwortlich. Möglicherweise stellt das Progesteron einen dieser Faktoren dar. Die Beziehungen zwischen dem Progesteron- und dem Aldosteronstoffwechsel im Rahmen der Schwangerschaft sind jedoch nicht durch die einfache Formel zu erfassen, hohe Progesteronsekretion bedingt hohe Aldosteronsekretion, niedrige Progesteronsekretion bedingt niedrige Aldosteronsekretion.

Zusammenfassung

Zur Klärung der Frage, ob die hohen Aldosteronwerte der Schwangerschaft durch die hohen Progesteronwerte bedingt sind, wurde 10 gesunden Schwangeren an 10 aufeinanderfolgenden Tagen 1 mg Aldosteron i.m. injiziert. Während dieser 10 Tage,

im Verlaufe einer fünftägigen Vor- und einer zweitägigen Nachperiode, wurde die Pregnandiolausscheidung im Harn gemessen. Bei allen 10 Fällen liess sich keine signifikante Veränderung der Pregnandiolausscheidung nachweisen. Die Ergebnisse werden anhand der vorliegenden Literatur diskutiert.

Tabelle I

Nr.	N a m e	Alter	mens	Aldosteron/Tag	Aldosteron Gesamtmenge
I	M.E.	41	X	4 mg	10 mg
II	H.M-L	24	IX	1 mg	10 mg
III	G.B.	20	IX	1 mg	10 mg
IV	R.K.	22	IX	1 mg	10 mg
V	J.M.	26	IX	1 mg	10 mg
VI	R.H.	21	IX	1 mg	10 mg
VII	H.M.	27	VII	1 mg	10 mg
VIII	S.H.	18	VII	1 mg	10 mg
IX	B.H.	17	VII	1 mg	10 mg
X	F.M.	20	V	1 mg	10 mg

Tabelle III

Nr.	N a m e	Alter	mens
11	M.F.	20	X
12	H.K.	25	V
13	L.SCH.	22	X

Die Pregnanolausscheidung bei gesunden Schwangeren an 10 bzw. 20 aufeinanderfolgenden Tagen.

Nr.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.
11	6,2	8,4	6,2	5,6	9,8	6,5	10,9	9,9	9,5	6,7	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
12	5,2	6,8	5,1	10,5	7,2	4,3	4,2	7,4	3,7	5,3	8,4	9,3	5,8	5,3	4,5	8,1	7,5	7,6	6,9	7,8
13	7,7	12,6	14,7	10,2	16,2	13,3	10,0	14,7	8,0	17,5	10,9	10,8	10,8	8,3	10,9	6,0	0,7	0,9	0,8	0,2

Partus

Tabelle II

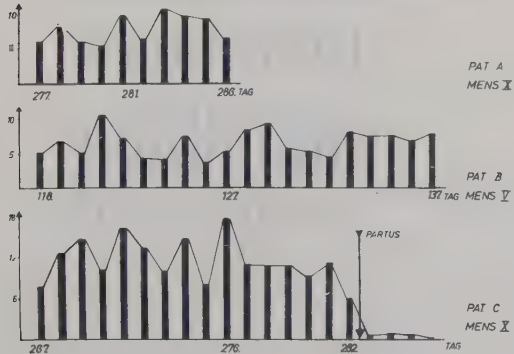
Die PREGNANDIOLAUSCHIEDUNG nach hohen Fortlaufenden Aldosterongaben in mg/Tag.

Nr.	-5	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	+1	+2
1	17,2	16,3	10,2	9,6	12,8	6,4	13,3	12,7	11,8	14,5	9,8	7,8	7,2	11,5	8,0	8,1	7,2
2	24,3	22,5	16,6	18,8	29,2	14,1	28,1	31,3	27,5	12,3	27,7	13,8	17,9	26,3	15,1	23,4	23,9
3	10,0	8,4	14,0	10,6	11,3	13,1	16,9	14,3	8,8	---	20,3	22,5	7,5	6,3	9,8	---	7,7
4	15,6	14,1	10,9	16,9	21,3	13,8	6,9	5,0	6,5	13,7	10,8	---	19,2	---	22,2	13,8	22,9
5	16,5	18,8	16,6	10,4	11,3	17,3	6,4	7,2	13,3	14,7	1,4	10,3	11,6	11,4	13,8	12,2	15,0
6	17,0	15,3	30,3	12,0	25,5	21,9	22,3	23,4	30,0	27,4	47,0	22,0	24,0	17,2	23,4	12,7	23,4
7	6,6	8,8	5,4	3,5	5,2	3,6	3,0	2,9	3,0	2,6	---	2,7	5,9	3,2	3,9	3,3	3,2
8	5,2	5,9	6,8	5,3	6,1	5,2	6,7	7,3	7,1	5,6	8,2	4,4	4,0	10,0	4,2	3,0	6,1
9	3,5	4,3	4,9	4,4	5,5	8,3	9,1	6,1	5,0	5,0	7,2	4,4	7,8	9,6	3,5	9,6	8,4
10	4,8	13,8	6,2	13,2	11,7	11,0	10,4	9,6	7,5	12,2	9,4	11,0	8,4	7,5	5,9	10,0	11,3
Σ	11,4	12,8	12,2	10,5	14,0	11,5	12,3	12,0	12,1	12,0	14,6	11,0	11,4	11,4	11,0	10,7	12,9
σ	2,2	1,8	2,4	1,6	2,7	1,8	2,5	2,8	3,0	2,5	2,7	2,4	2,1	2,3	2,3	2,0	2,5

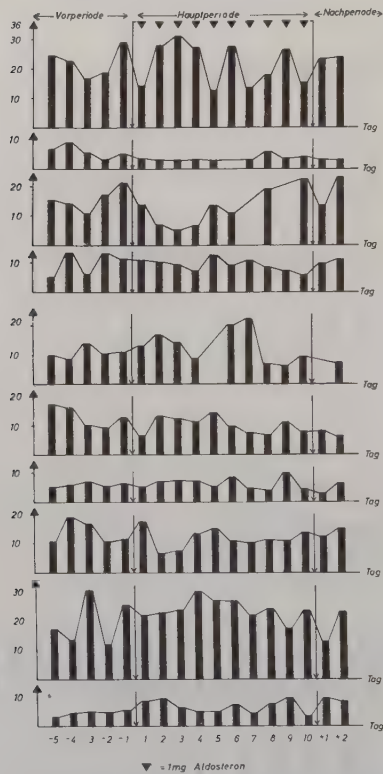
Tabelle IV

Vergleich zwischen:	t	P
II und I	- 0,03	0,80
III und I	- 0,004	0,70
IV und I	- 0,06	0,60
V und I	- 0,06	0,60

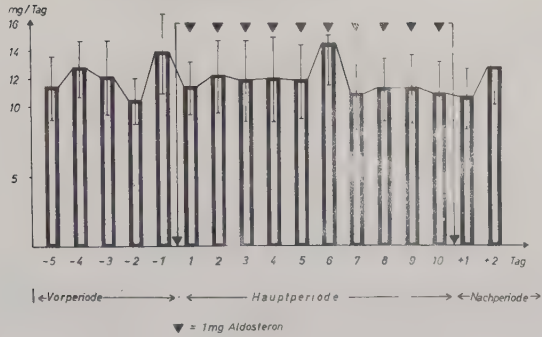
Die Pregnanoliasscheidung bei gesunden Schwangeren in mg/Tag.



Die Pregandriolausscheidung bei gesunden Schwangeren
nach hohen Aldosterongaben in mg/die



Die Pregnonidiolausscheidung gesunder Schwangerer nach hohen Aldosterongaben (Mittelwerte)



1. D e A l v a r e z , R. R.
Glomerular filtration rates, renal plasma flow,
and sodium and water excretion in pregnancy toxemia.
Amer. J. Obstetr. Gynec. 60 (1950), 1051 ff.
2. A r o s , M. G u r p i d e , E. , V a n d e W i e l e ,
R.L and L i e b e r m a n n , S
clin. Endocr. 24 (1964) , S. 3
3. A s s a l i , N.S. K a p l a n , S.A. F o m o n , S.J.
and Douglass R.A. jr.
Renal function studies in toxemia of pregnancy.
J. clin. Invest. 32 (1953), S. 1 - 44.
4. A s t w o o d E.B., J o n e s , G.E. S
A simple method for the quantitative determination
of pregnandiol in human urine.
biol. Chem. 137 (1941), S. 397 ff.
5. A y r e s , P.J. E i c h h o r n , J., H e c h t e r a , Q
S a b a , N. T a i t , J.F. and T a i t , S.A.S.
Some studies on the biosynthesis of aldosterone and
other adrenal steroids.
Acta endocr. 33, (1960) S. 27 ff.
6. B a r t h o l o m e i , G. O n n i s , A
Il corticosurrene nelle tossicosigravidiche.
Attual. Ostet. Ginec. 1, (1955) S. 63 ff.
7. B a u l i e u E.E., M. d e V i g a n ,
B r i c a v e , H. J a y l e , M.F.
Lack of plasma cortisol and urinaryaldosterone in a
pregnant woman with addison's disease.
clin. Endocrin 17 (1957) S. 1478 ff.
8. B e n g t s s o n . L.P.H. E j a r q u e , P
Production rate of progesterone in human pregnancy.
Acta endocr. Suppl 67 (1962) S. 117 ff.

9. B e r l i n e r , M.L. B e r l i n e r , D.L.
D o u g h e r t y , Th.F.
Metabolism of progesterone by adrenal tissue from
patiente with Cushing's syndrom and mammary carcinoma.
J. clin. Endocr. 18,1 (1958) S. 109 ff.
10. B e r l i n e r , D.L. J o n e s J.E.
S a l h a n i c k , H.A.
The isolation of adrenal-like steroids from the human
placenta.
biol. Chem. 223 (1956) S. 1043 ff.
11. B l o c h , K
The biological conversion of cholesterol to pregnandiol.
biol. Chem 157 (1945) S. 661 ff.
12. B r a d b u r y J.T. and K e n t , Th. H.
Protein hindrance of pregnandiol recovery.
Endocrin. ologg. 60, (1956) S. 164 ff.
13. B r a d l o w H.L. and G a l l a g h e r T.F.
Metabolism of progesterone - 4 - c ¹⁴ in man.
Fed. Proc. 14 (1955) S. 185 ff.
14. B r o w n e J.S.P. , H e n r y , J.S. V e n n i n g , E.H.
clin. Invest. 17 (1938) S. 503 ff.
15. D e B r u i n e , L.A.
Aldosteronausscheidung und eklamptogene Toxikose.
Ned. T. Verlosk. 80 , (1960) S. 381 ff.
16. C o p e , C.L. Brit med. J. 2 (1940) S. 545 ff.
17. C o r c o r a n N.C. P a g e I.H.
Renal function in late toxemia of pregnancy
Amer. med. Sci. 201 (1941) S. 385 ff.
18. C o x , R.I.
Pregnane - 3, 17, 20 - triol, pregnane - 3, 17, 20 -
triol - 11 - one and related steroids.
Acta endocr. 33 (1960) S. 477 ff.

19. C o y l e M.G., G r e i g , M., W a l k e r J.
Blood-progesterone and urinary pregnandiol and
oestrogens in foetal death from severe preeclampsia.
Lancet II (1962) S. 275 ff.
20. C r e p y O. , J u d a s O., R u l l e a u -
M e s l i n F., J a y l e M.F.
Mode de conjugaison des métabolites de la progésterone
dans les urines de femmes enceintes.
Bull. Soc. Chim. biol. 44, (1962) S. 327 ff.
21. D e v i s , R
Sur l'origine de la prégnandiolorie dans la
deuxième moitié de la grossesse.
Ann. Endocr. 10, (1949) S. 173 ff.
22. D i l l , L.V., I s e n h o u r C.E., C a d d e n J.F.
and S c h a f f e r N.K.
Glomerular filtration and renal blood flow in the
toxemias of pregnancy.
Amer. J. Obstetr. Gynec. 43 (1943), S. 32 ff.
23. D o b r i n e r K and L i e b e r m a n S.
The metabolism of steroid hormones in humans.
A Symposium on steroid hormones.
Ed. by E.D. Gordon. Madison, The University of Wisconsin
Press. (1950) S. 66 ff.
24. D y r e n f u r t h I., V e n n i n g , E.H.
Studies on the assay of aldosterone, chromatography and
chemical determination
Endocrinology 64 (1959) 118 ff.
25. E h r l i c h E.M. , L a v e s , M. L u g i b i h l , K.
L a n d a u , R.L.
Progesterone-aldosterone interrelationships in
pregnancy.
J. Lab. clin. Med 59,4 (1962) S. 588 ff.

26. L n g e l L.L., T h o r n , G.W. L e w i s , R.A.
The urinary excretion of steroid compounds
J. biol. Chem. 137 (1941) S. 205 ff.
27. L n g e l P.
A study of progesterone inactivation by the liver
after intraportal administration
Endocrinology 38, (1946) S. 215 ff.
28. E t o n , B. - C h o r t , R.V.
Blood progesterone levels in abnormal pregnancies.
Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 67 (1960) S. 785 ff.
29. F e r i n J. et M e r t e u s C.
Le métabolisme de la progesterone.
Soc. Biol. 40 (1946) S. 800 ff.
30. Fermente Hormone Vitamine
und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1960, 292
31. P i c h , W.R., D o r f m a n R.J. and W.C. W o o n g
The isolation of pregnandiol from the urine of
pregnant chimpanzees.
biol. Chem. 143 (1942) S. 715 ff.
32. F o r b e s , H. H o c k e r , K P f e i f f e r ,
Th.E.
Endocrinology 47 (1950) S. 83 ff.
33. G a l l a g h e r r , T.F. B r a d l o w M.L.,
F u k u s h i m a D.K., B e e r C., K r i t -
c h e v s k y T.H., S t o k e m M., E i d i n o f f
M.L., H e l l m a n n L. and D o b r i n e r K.
Studies of the metabolites of isotopic steroid
hormones in man.
Recent Progr. Hormone Res. 9, (1954) S. 411 ff.
34. J.R. G e i g y A.G. Basel
Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen 1955, S 27

35. G o r n a l l A.G., R o b e r t s o n H.E. and
J.C. L a i d l a w
The influence of estrogen and progesterone on urinary
sodium and aldosterone excretion.
Acta endocr. 35, Suppl. 51, (1960) S. 157 ff.
36. G r o s s F.
Nebennierenrinde und Wasser- Salzstoffwechsel unter
besonderer Berücksichtigung von Aldosteron.
Klin. Wschr. 34, (1956), S. 929 ff.
37. H a i n A.M.
J. Endocr. 2, (1940) S. 104 ff.
38. H a m b l e n E.C., C u y l e r , K. B a t t i s t ,
M
Pregnandiol determinations in gynecology and obstetrics
Amer. J. Obstetr. 44, (1942) S. 442 ff.
39. H a u s e r A.
Diskussionsbeitrag auf der Tagung der oberrheinischen
Gesellschaft für Geburtshilfe und Gynäkologie am
5.5.1947 in Freiburg i.Br.
40. H e a r d , R.D.H. , B a n u l d , W.S., H o f f m a n n
M.M.
-estradiol and progesterone metabolism.
J. biol. Chem 141, (1941) S. 709 ff.
41. H o f f m a n n , M.M., K a z m i n , V.E.
B r o w n e , J.S. L.
The excretion of pregnandiol following the admini-
stration of desoxycorticosteroneacetate to rabbits.
J. biol. Chem. 147 (1943) S. 259 ff.
42. H o f f m a n n Fr. und v. L a n , L.
Über den Progesteronnachweis in corpora lutea, Placenta
und Schwangerenblut.
Zbl. Gynäk. 65, (1941) S. 2014 ff.

43. Huebner, C.F., Overmann, R.S., Link, K.P.
The synthesis of pregnandiol 3 - d - glucuronide.
biol. Chem. 155 (1944) S. 615 ff.
44. Jayle, M.F., Crepy, O., Timperez, T.
Elimination des glucuronides butylosolubles au cours
de la grossesse.
Ann. Endocr. 10, (1949) S. 155 ff.
45. Jones K.M., Lloyd-Jones, P.
Riandel, A., Tait, J.F., Tait, S.A.S.
Bulbrooks, R., Greenwood, F.C.
Aldosterone secretion and metabolism in normal man and
women and in pregnancy.
Acta endocr. 30, (1959) S. 321 ff.
46. Jones J.E., Berliner D.L., Salhanick
H.A.
Isolation of polar steroids from placenta and pregnancy
plasma.
Fed. Proc. 14 (1955) S. 82 ff.
47. Kaiser, R.
Die Pragnandiolausscheidung im Harn vor der Geburt.
Arch. Gynäk. 179, (1951) S. 115 ff.
48. Karriher D.H., George R.H.
Toxemias of pregnancy and the inuliniodrast clearance
tests.
Proc. Soc. exp. Biol., 52 (1943) S. 245 ff.
49. Kaufmann, C., Westphal u. Zander,
Untersuchung über die biologische Bedeutung der Aus-
scheidungsprodukte des Gelbkörperhormons.
Arch. Gynäk. 179, (1951) S. 247 ff.
50. Keller, M., Hauser A.
Zur Beurteilung der Pregnandiolausscheidung in der
zweiten Zyklushälfte.
Gynaecologia 149 (1960) S. 337 ff.

51. K a n n y , R.A., L a w r e n c e R.F and M i l l e r D.H.
Haemodynamic changes in the kidney in toxæmia of late pregnancy.
J. Obstet Gynaec. Brit Emp. 57, (1950) S. 17 ff.
52. K o c z o r e k , Kh. R., W o l f f H.P. B e e r , H.L.
Über die Aldosteronausscheidung bei Schwangerschaften und bei Schwangerschaftstoxikosen.
Klin.Wschr. 35, (1957) S. 497 ff.
53. K o c z o r e k Kh. R.
Physiologie und Pathophysiologie der Aldosteroninkretion
Kolloquium, Wien, Mai 1961
54. K o c z o r e k Kh. R.
Über aldosteronantagonistische Eigenschaften des Progesteron
Klin.Wschr. 38 (1960) S. 826 ff.
55. K o s s m a n n H.
Die Ausscheidung von Aldosteron, Na, K bei Nichtschwangeren nach fortlaufender hoher Progesterongabe
Med. Diss. Mainz, März 1963
56. K r i e g e r , D.T. , G a b r i l o r e J.L.
S o f f e r , L.J.
Adrenal function in a pregnant bilaterally adrenalectomized women.
J. clin. Endocr. 20, (1959) S. 1493 ff.
57. K u m a r D.L., F e l t h a m A.W., G o r n a l l , A.G.
Aldosterone excretion and tissue electrolytes in normal pregnancy and preeclampsia
Lancet I, 541, (1959) S. 7072 ff.
58. L a i d l a w J.C., R u s e , J.L., G o r n a l l ; A.G.
The influence of estrogen and progesterone on aldosterone excretion.
J. Clin. Endocr. 22, (1962) S. 161 ff.

59. Landau R.L., Lugibihl K.
Inhibition of the sodium retaining influence of
aldosterone by progesterone.
Clin. Endocr. 18, (1958) S. 1237 ff.
60. Landau R.L., Bergenstahl D.M.,
Lugibihl K., Kascht M.E.
The metabolic effects of progesterone in man.
Clin. Endocr. 12, (1955) S. 1194 ff.
61. Laragh J.H., Ullick St., Janusce-
wicz V., Kelly W., Lieberman S.
Elektrolyt meta-bolism and aldosterone secretion in
benign and malignant hypertension.
Ann. Int. Med. 53, (1960) S. 259
62. Layne D.S., Meyer Cl. J., Vaishwanar
P.S., Pincus G.
The secretion and metabolism of cortisol and aldosterone
in normal and steroid-treated women.
J. Clin. Endocr. , 22 (1962) S. 107 ff.
63. Levy, H., Jeanloz R.W., Jacobsen
R.P., Hechter O., Schenker V., G.
Pincus.
Chemical transformations of steroids by adrenal
perfusion.
J. biol. Chem. 211 (1954), S. 367 ff.
64. Liddle G.W.
Aldosteronantagonists
Arch. Int. Med. 102 (1958) S. 998
65. Little B., Di Martinis J. and B.
Myholm
The conversion of Progesterone to ⁴pregnene - 20
- ol, 3- one by human placenta in vitro.
Acta endocr. 30 (1959) S. 530 ff.

66. Lloyd C.W., Hughes E.C., Lobotsky J.,
Rienzo J., Auerry G.M.
Some hormone studies in normal and toxemic pregnancy
Clin. Invest. 31, (1952) S. 1056 ff.
67. Lombardo M.E., Roitman E. and
Hudson P.B.
Donversion of progesterone, 17-hydroxy progesterone
and 11-desoxycortisol to cortisol by the human
adrenal gland in vitro.
Clin. Endocr. 16, (1956) S. 1283 ff.
68. Louros N.C., Miras K., Frangia-
dakis L.
Aldosteronausscheidung und Pregnanoliasscheidung
im Urin der normalen Schwangerschaft und der Toxikose.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 20, (1960) S. 848 ff.
69. Marker R.E.
Amer. Chem. Soc. 61, (1939) S. 1287 ff.
70. Martin J-D., Mills J.H.
Aldosterone excretion in normal and toxæmie
pregnancies.
Brit. med. J. II
71. Masson G. and Hoffman H.M.
Studies on the role of the liver in the
metabolism of progesterone
Endocrinology 37, (1945) S. 111
72. Milliez P., Fritel, D
Les éliminations hormonales au cours des toxémies
gravidiques.
Gynéc. et Obstét. 53 (1954) S. 114 ff.
73. Müller H.A.
Die Pregnanoliasscheidung im Harn als Spiegel-
bild der Funktion des corpus luteum.
Klin. W. 19 (1940) S. 318 ff.

74. M u l l e r A., G a u t i e r A.
Etude de l'élimination de l'aldostérone et du sodium chez le nouveau-né
Helv. paediat. Acta 13 (1958) S. 1 - 4 ,
75. N e h e r R., S t a r k , G
Nachweis von Corticosteroiden in menschlicher Placenta und Isolierung von 1 - Hydroxytestosteron.
Experientia, Basel, 17 (1961) S. 510 ff.
76. N o a c k . H.,
Hormonelle Regulation in der Frühschwangerschaft
Thieme Verlag. S. 31 ff. 1958 Leipzig
77. Pavlatos M., M a r o u d i s D., T e r z i s B.,
E v a n g e l o p o u l o s A.
Steroidgehalt des Urin bei Toxinaemien in der Schwangerschaft
Zbl. Gyn. 80, 1958 S. 391-397
78. P e a r l m a n W.H.
Chemistry and metabolism of progesterone.
"The Hormons" Bd. I New. York 1948
79. P e a r l m a n W.H. and P i n c u s G.
The metabolism of pregnenolone.
Fed. Proc. 5, 79, 1946
80. P l o t z J., D a r u p E.
Die Bedeutung des Progesteron und der Östrogene bei der Entstehung und Behandlung der Fehlgeburten.
Zbl. Gynäk. 71, (1949) S. 867 ff.
81. Q u i l l i g a n E.J., R o t h c h i l d I.
Rate of pregnandiol excretion following intraportal or intrasystemic intravenous administration of progesterone in human subjects.
J.Clin. Endocr. 17 (1957) S. 595 ff.

82. R a k K.
Die Pregnandiolausscheidung in der Schwangerschaft
Zschr. Geburtsh. 130 (1949 530 ff.
83. R i n s l e r M.G., R i g b y B.
Function of aldosterone in the metabolism of
sodium and water in pregnancy.
Brit. med. J. 2, (1957) S. 966 ff.
84. R o g e r s J. and M c L e l l a n F.
Isolation of pregnadiol from human bile after oral
administration of progesterone.
Clin. Endocr. 11, (1951) S. 246 ff.
85. R ö t t g e r H., H e c k e n b a c h E.H.
Der Einfluss der Sexualhormone auf den Wasserhaushalt
der Frau.
Arch. Gynäk. 95 (1957) S. 190 ff.
86. S a l h a n i c k H.A., J o n e s J.E., B e r l i n e r
D.L.
Sources of placental steroids.
Fed. Proc. 15, (1956) S. 160 ff.
87. S a n d b e r g A.A., S l a u n w h i t e W.R.
The metabolic fate of C¹⁴progesterone in human
subjects.
J.Clin. Endocr. 18 (1958) S. 253 ff.
88. S h e n N.H.C., F r a n c i s F.E.,
K i n s e l l a , R.A.
Thin - layer chromatographie of 17-ketosteroids,
pregnanediol and pregnanetriol in urine.
J.Lab. Clin. Med. 60 , (1962) S. 1017
89. S h e n N.H.C., K a t z m a n M.B., F r a n c i s
F.W. K i n s e l l a , R.A.
Determination of pregnanolone, pregnanediol and
pregnanetriol in urine.
J. Lab. Clin. Med. 61 (1963) S. 174

90. S i m m e r H. und S i m m e r J.
Progesteron im peripheren Venenblut von Schwangeren
mit Spätgestosen.
Klin. Wschr., 37 (1959) S. 971 H.
91. S i m p s o n S.A., T a i t J.F. and B u s h I.E.
Secretion of a salt-retaining hormone by the mammalian
adrenal cortex.
Lancet II, (1952) S. 226 ff.
92. S o m m e r v i l l e I.F., M a r r i a n G.F.
Urinary excretion of pregnanediol in human subjects
following the administration of progesterone and of
pregnane-3 20 diol.
Biochem. J. 46, (1950) S. 285 ff.
93. S o l o m o n S., V a n d e W e i l e R., S.
L i e b e r m a n
The in vitro synthesis of 17- - hydroxyprogesterone and
⁴androstene - 3,17 - dione from progesterone by
bovine ovarian. tissue.
J. Amer. Chem. Soc. 78, (1956) S. 5453
94. S t a h l E.
Dünnschichtchromatographie
Springerverlag Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962
95. S t a h l E.
Dünnschichtchromatographie
Pharmazie (1956) S. 633 ff.
96. S t a h l , E.
IV Mitteilungen Dünnschichtchromatographie
Arch. Pharmazie (1959) S. 292 ff.
97. S t a r k , G.
Zum Abbau und der Bildung des Aldosteron bei
Nichtschwangeren und Schwangeren
Arch. Gynäk. 197 (1962) S. 484 ff.

98. S t a r k G.
Die Ausscheidung von Aldosteron, Cortison und Cortisol
sowie Natrium und Kalium nach hoher Progesterongabe.
Arch. Gynäk. 197 (1962) S. 28 ff.
99. S t a r k G.
Die Ausscheidung von Aldosteron, Cortison und Cortisol
bei Nichtschwangeren und Schwangeren in der normalen
und pathologischen Gravidität.
Arch. Gynäk. 192 (1960) S 519 ff.
100. S t a u b M.C., G a i t a n E., D i n g m a n J.F.
A simple method for the determination of urinary
pregnanediol and pregnanetriol by glass fiber paper-
chromatography.
J. Clin. Endocr. 22 (1962) S. 87 ff.
101. S t e i g m a n n F., S i s o n A., D u b l i n A.
Progesterone - aldosterone antagonism in the
treatment of massive ascites of cirrhotic patients.
J. Clin. Endocr. 16 (1956) S. 1130 ff.
102. T a y l o r W.
The metabolism of progesterone by animal tissue
in vitro.
Biochem. 60 (1955) S. 380 ff.
103. U n g a r F., D o r f m a n R.I., S t e c h e r R.M.,
V i g n o s P.J.
Metabolism of the steroid hormones, metabolism
of progesterone and related steroids.
Endocrinology 49 (1951) S 440 ff.
104. V e n n i n g E.H.
Further studies on the estimation of small amounts
of sodium pregnanediol glucuronide in urine.
J. biol. Chem. 126 (1938) S. 595 ff.

105. V e n n i n g E.H. S i n g e r B.,
S i m p s o n , G.A.
Adrenocortical function in toxæmia of pregnancy
Amer. J. Obstet. 67 (1954) S. 542 ff.
106. V e n n i n g E.H., S y b u l s k i S.,
P o l l a k , V.E. R y a n , R.J.
Aldosterone excretion in two adrenalectomized
pregnant woman.
J. Clin. Endocr. 19 (1959) S. 1486 ff.
107. V e n n i n g E.H.
Gravimetric method for the determination of
sodiumpregnanediolglucuronidate (an excretionproduct
of progesterone)
J. biol. Chem 119 (1937) S. 473 ff.
108. V e n n i n g E.H., D y r e n f u r t h I.
Aldosterone excretion in pregnancy
J. Clin. Endocr. 16 (1956) S. 426 ff.
109. W a g n e r H.
Über den hormonalen und vegetativen Funktionswandel
nach gynäkologischen Operationen
Zschr. Geburtsh. 144 (1955) S. 206 ff.
110. W a l d i D.
Dünnschichtchromatographie im ärztlichen Laboratorium
Ärztl. Lab. 9 (1963) S. 221 ff.
111. W e i l P.G.
The excretion of pregnanediol in the toxemias of
pregnancy.
Science 87 (1938) S. 72 ff.

112. W e n n e r R., K e l l e r , M. H a u s e r G.A.
Sexualhormonausscheidung bei drohendem partus
immaturus und praematurus.
Gynaekologia 143 (1957) S. 159 ff.
113. V a n d e W i e l e , R.L., G u r p i d e E.,
K e l l y W.G., L a r a g h J.H. L i e b e r m a n
The secretory rate of progesterone and aldosterone
in normal and abnormal late pregnancy.
Acta endocr. 35 suppl. 51, (1960) S. 159 ff.
114. W i l b r a n d U., H u m k e W.
Der Einfluss von Follikelhormon und Progesteron auf
den Kochsalz. und Wasserhaushalt der Frau
Zschr. Geburtsh. 144 , (1955) S. 183 ff.
115. W o l f f H.P., K o c z o r e k Kh. R., E.
B u c h b o r n , W. J e n s c h
Untersuchung über die Aldosteronausscheidung bei
Leberkranken.
Klin. Wschr. 34 (1956) S. 366
116. W ü r t e r l e A.
Ausscheidung von Östrogenen und Pregndiol in der
Spätschwangerschaft
Geburtsh. Frauenk. (1960) S. 1275 ff.
117. Z a n d e r Josef
Brook Lodge Sympos. on Progesterone
The Upjohn Co. 1961
118. Z a n d e r Josef
Klinik der inneren Sekretion (H. Labhart)
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg
S. 600, 1957
119. Z a n d e r J., F o r b e s , T.R. v o n M u n s t e r -
m a n n A.M., N e h e r R.

$4-3$ ketopregnen 20 ol and $4-3$ - krtopregnen - $20 - \text{ol}$, two naturally occuring metabolites of Progesterone. Isolation, identification, biologic activity and concentration in human tissues. Clin. Endocr. 18, (1958) S. 337 ff.

120. Z i m m e r m a n n H.
Chem. Bestimmungsmethoden von Sterioden in Körper-
flüssigkeiten.
Springerverlag Berlin-Göttingen-Heidelberg 1962

Herrn Professor Dr. G. S t a r k danke ich
für die Überlassung des Themas und für die
ständige Unterstützung und Beratung während
der Arbeit.

Herrn Professor Dr. K. T h o m s e n danke
ich für die Übernahme des Korreferates.

Herrn Dr. L a n g e bin ich zu Dank ver-
pflichtet für die Beratung beim statistischen
Teil der Arbeit.

Frau Krienitz danke ich für die Einarbeitung
in die Laboratoriumsmethodik.

Lebenslauf

Am 13. April 1940 wurde ich als erstes von drei Kindern des Diplom-Ingenieurs Helmut Schauder und seiner Frau Helga, geb. Kaffanke, in Breslau geboren. Ich bin röm. kath. Konfession. Im Januar 1945 mussten wir aus Breslau fliehen. Mein Vater ist am 17. April 1945 bei den Rückzugskämpfen von der Ostfront gefallen. In Montabaur/Westerwald besuchte ich 4 Jahre die Volksschule und trat Ostern 1950 in die Sexta des Gymnasiums in Marienstatt/Ww. ein. Ab Herbst 1952 besuchte ich das Rhabanus Maurus-Gymnasium in Mainz und absolvierte am 17. Februar 1959 das Abitur. Am 4. Mai 1959 begann ich an der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz mit dem Studium der Medizin. Am 29. April 1960 und am 10. August 1961 bestand ich das Vorphysikum und das Physikum. Die beiden ersten klinischen Semester, Wintersemester 1961/62 und Sommersemester 1962, studierte ich an der medizinischen Fakultät der Universität Montpellier, im Wintersemester 1962/63 an den Kliniken der Freien Universität Berlin. Seit Sommersemester 1963 studiere ich wieder an der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz und möchte hier Ende Wintersemester 1964/65 mit dem Staatsexamen beginnen.

